AUS DEM INSTITUT FÜR MEDIZINISCHE MIKROBIOLOGIE
(Direktor: Prof. Dr. P. Klein)
DER JOHANNES GUTENBERG - UNIVERSITÄT MAINZ

UNTERSUCHUNGEN ZUR PROLIFERATIONSKINETIK VON LEUKOZYTEN BEIM KANINCHEN ALS GRUNDLAGE IMMUNSUPPRESSIVER BEHANDLUNG

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg - Universität Mainz,
den medizinischen Fachbereichen
vorgelegt von

Hartmut Thiry
aus
Schwarzenbach

MAINZ 1974

1976

AUS DEM INSTITUT FÜR MEDIZINISCHE MIKROBIOLOGIE
(Direktor: Prof.Dr. P. Klein)
DER JOHANNES GUTENBERG - UNIVERSITÄT MAINZ

UNTERSUCHUNGEN ZUR PROLIFERATIONSKINETIK VON LEUKOZYTEN BEIM KANINCHEN ALS GRUNDLAGE IMMUNSUPPRESSIVER BEHANDLUNG

INAUGURALDISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE DER MEDIZIN
DER JOHANNES GUTENBERG - UNIVERSITÄT MAINZ,
DEN MEDIZINISCHEN FACHBEREICHEN
VORGELEGT VON

Hartmut Thiry
aus
Schwarzenbach

MAINZ 1974

FACHBEREICHSDEKAN: Professor Dr. Paul Klein

REFERENT: Professor Dr. Ernst-Martin Lemmel

KORREFERENT: Professor Dr. Ulrich Hadding

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der mündlichen Prüfung: 25.Februar 1976

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

A. Thematischer Rahmen - Problemstellung

I. Möglichkeiten der medikamentösen Beeinflussung immunologischer Vorgänge, erläutert am "X-Y-Z" Schema S. 1-2

II. Zum Wirkungsmechanismus von 6-Merkaptopurin und Cyclophosphamid S. 2-4

III. Experimentelle Erfahrungen mit Immunsuppressiva und die sich daraus ergebende Fragestellung S. 4-6

B. Experimenteller Teil

B1 Autoradiographische Bestimmung des Lebensalters einzelner Leukozytenfraktionen

I. Methodik S. 7-8

II. Ergebnisse und graphische Darstellung S. 8-10

III. Diskussion der Ergebnisse S. 10-16

B2 Der Einfluß von 6-Merkaptopurin und Cyclophosphamid auf die humorale Immunantwort sowie auf das Differentialblutbild beim Kaninchen

I. Methodik S. 17-19

II. Ergebnisse und graphische Darstellungen

a) Titerverlauf S. 19

b) Graphische Darstellung der Titerwerte S. 19-21

c) Veränderungen im Differentialblutbild S. 21-24

d) Graphische Darstellung der Veränderungen im Differentialblutbild S. 24

e) Gegenüberstellung von Titerverlauf und zeitlicher Änderung im Differentialblutbild S. 24-29

C. Diskussion

I. Zusammenfassende Beurteilung der eigenen Ergebnisse S. 30

II. Schlußfolgerungen S. 31-32

D. Zusammenfassung S. 33-34

E. Tabellarischer Anhang S. 35-46

F. Literaturverzeichnis S. 47 ff.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41556033_0095

A. Thematischer Rahmen - Problemstellung

I. Möglichkeiten der medikamentösen Beeinflussung immunologischer Vorgänge, erläutert am "X-Y-Z" Schema.

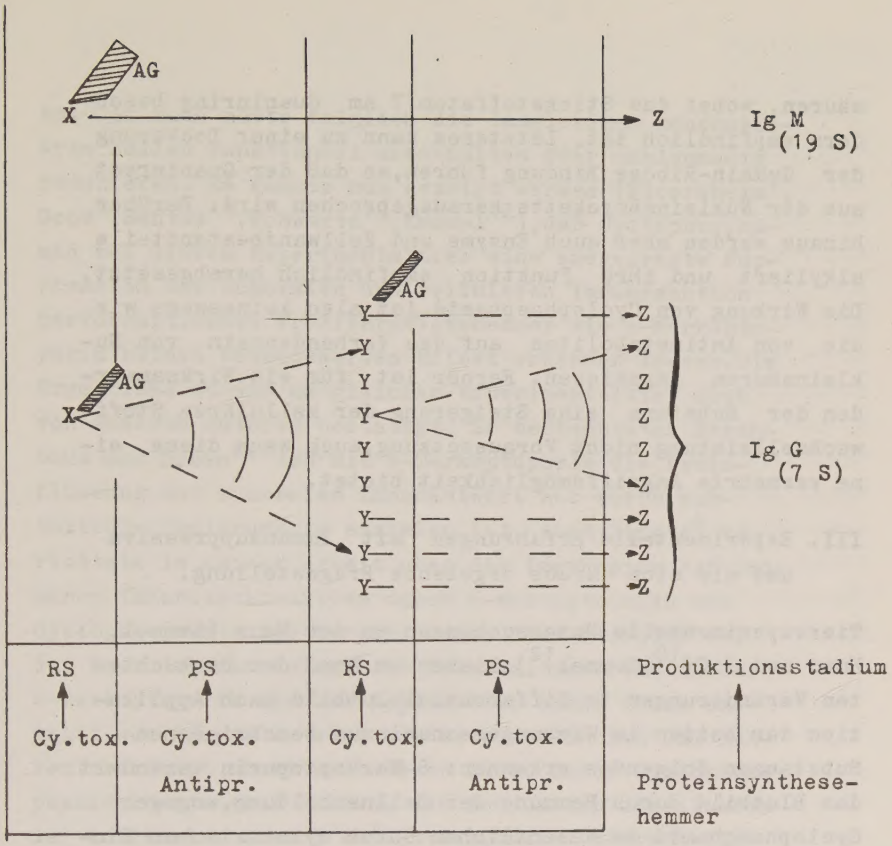
Vor wenigen Jahren wurden von Sercarz und Coons[16] und Šterzl[21] in einer schematischen Darstellung die zellulären Differenzierungsschritte wiedergegeben,die die immunkompetenten Zellen nach Begegnung mit ihrem korrespondierenden Antigen durchlaufen:das sog."X-Y-Z" Schema.Gleichzeitig legten diese Autoren Experimentalbefunde vor, die die Richtigkeit dieser schematischen Darstellung im B Zellsystem wahrscheinlich machen.Danach ist davon auszugehen,daß im nicht immunisierten(naiven) Organismus Zellen mit spezifischer Reagibilität vorliegen, die nur auf das ihnen korrespondierende (spezifische) Antigen ansprechen. Diese sog. "X-Zellen" reagieren nach Erstbegegnung mit dem entsprechenden Antigen in zweifacher Weise: Handelt es sich um einen starken Antigenreiz,so wandeln sie sich durch funktionelle Transformation in die sog. "Z-Zellen" um, die im B-System den Gammaglobulin bildenden Plasmazellen entsprechen. Ist der antigene Stimulus hingegen schwach, so kommt es zu einer Proliferationsphase der spezifischen "X-Zellen" (klonale Proliferation), aus der nach mehreren Teilungsschritten die sog. "Y-Zellen" - die Träger des immunologischen Gedächtnisses - hervorgehen. Nach Zweitbegegnung mit dem Antigen werden daraus entweder unmittelbar "Z-Zellen", oder es entsteht nach erneuter klonaler Proliferation eine Population,die dann ihrerseits in den Funktionszustand der "Z-Zelle" übergeht.
Innerhalb dieser komplexen Abläufe kann man folgende Aktivitätszustände der Zellen unterscheiden. Einmal gibt es Stadien der relativen metabolischen Ruhe; diese werden durch Proliferationsstadien - mit hoher Aktivität - abgelöst; schließlich befinden sich die Zellen im Produktionsstadium, in dem die Antikörper gebil-

det werden. Innerhalb dieser Funktionszustände zeigen die Zellen gegenüber verschiedenartigen Gruppen von Pharmaka eine unterschiedliche Sensitivität. So werden Substanzen,die die Proteinbiosynthese hemmen (z.B. Chloramphenicol) insbesondere im Funktionsstadium der "Z-Zellen" wirksam sein. Substanzen,die in den Zellmetabolismus eingreifen (z.B. Antimetabolite) werden vorwiegend in den Stadien erhöhten Zellstoffwechsels, wie z.B. im Zeitpunkt der klonalen Zellproliferation ihre maximale Wirksamkeit zeigen. Schließlich werden Substanzen mit einem generell zytotoxischen Wirkungsmechanismus (z.B. Alkylantien) die Zellen in Unabhängigkeit ihrer metabolischen Aktivitätslage schädigen können. (Abb. 1)

II. Zum Wirkungsmechanismus von 6-Merkaptopurin und Cyclophosphamid.

Der spezielle Wirkungsmechanismus des Antimetaboliten 6-Merkaptopurin und der alkylierenden Substanz Cyclophosphamid soll im Folgenden etwas näher erläutert werden. - Die antiproliferative Wirkung von 6-Merkaptopurin,das in der Zelle durch Umwandlung in das 6-Merkaptopurinnukleotid aktiviert wird,beruht im Wesentlichen auf einer Feedback Hemmung der Synthese von Adenin- und Guanin- Nukleotiden,die bei der Zellteilung zur Replikation der DNS benötigt werden. Auch eine Hemmung der Bildung von Boten RNS durch diesen Mechanismus wird diskutiert (Mornington[13]). Letzteres würde auch die Proteinbiosynthese am Ribosom stören, deren Voraussetzung es ist,daß die in der DNS lokalisierte genetische Information durch die Boten RNS übermittelt wird. Daneben besteht die Möglichkeit der Produktion von "Unsinn-DNS" durch Einbau von 6-Merkaptopurinnukleotide in die genetische Information.

Cyclophosphamid bewirkt eine Alkylierung bevorzugt an SH-Gruppen von Proteinen und an Nuklein-



- Abb. 1 -

Abb. 1 :

Schematische Darstellung des "X-Y-Z" Schemas und der verschiedenen Möglichkeiten eines pharmakologischen Eingreifens. - Cytotoxische Substanzen (Cy.tox.) vermögen Zellen sowohl im Ruhestadium (RS) als auch im Stadium der Proliferation (PS) zu schädigen. Antiproliferative Pharmaka (Antipr.) greifen dagegen lediglich im Proliferationsstadium an. Befinden sich die Zellen dagegen im Stadium der Produktion (Z-Zellen), so sind sie am besten Proteinsynthesehemmern zugänglich.

säuren, wobei das Stickstoffatom 7 am Guaninring besonders empfindlich ist. Letzteres kann zu einer Lockerung der Guanin-Ribose Bindung führen,so daß der Guaninrest aus der Nukleinsäurekette herausgebrochen wird. Darüber hinaus werden aber auch Enzyme und Zellwandbestandteile alkyliert und ihre Funktion empfindlich herabgesetzt. Die Wirkung von Cyclophosphamid ist also keineswegs wie die von Antimetaboliten auf das Vorhandensein von Nukleinsäuren angewiesen. Ferner ist für ein Wirksamwerden der Substanz eine Steigerung der zellulären Stoffwechselleistung nicht Voraussetzung,auch wenn diese eine vermehrte Angriffsmöglichkeit bietet.

III. Experimentelle Erfahrungen mit Immunsuppressiva und die sich daraus ergebende Fragestellung.

Tierexperimentelle Untersuchungen an der Maus (Lemmel, Hurd und Ziff[10],Lemmel[12]) ließen an Hand der beobachteten Veränderungen im Differentialblutbild nach Applikation der beiden im Wirkungsmechanismus beschriebenen Substanzen folgendes erkennen: 6-Merkaptopurin verändert das Blutbild durch Hemmung der Zellneubildung,wogegen Cyclophosphamid im Wesentlichen durch cytotoxischen Einfluß imponiert. Im Endeffekt wird die Proliferationshemmung zu einer peripheren Verarmung führen,die parallel zum physiologischen Absterben vor allem die kurzlebigen Zellen trifft,wobei die Zellverarmung nach Applikation einer zytotoxischen Substanz bei den langlebigen Zellpopulationen mehr in Erscheinung treten wird,da hier gesetzte Defekte durch langsame Proliferation erst spät kompensiert werden.
Autoradiographische Untersuchungen ergaben,daß Granulozyten und große mononukleäre Zellen des Blutes der Maus als kurzlebig anzusehen sind,wogegen kleine und mittlere mononukleäre Zellen,die als Träger der Kompetenz zur spezifisch immunologischen Reaktion in Frage kommen, langlebig erscheinen. Eine wirksame Immunsuppression

bei der Maus müßte folglich die langlebigen mononukleären Zellen funktionell ausschalten oder zahlenmäßig reduzieren. Es konnte nun gezeigt werden (Floersheim[7], Good[8], Santos[14], Schwartz[19], Lemmel[12]), daß Cyclophosphamid bei diesem Experimentaltier eine ausgeprägte Suppression der humoralen und zellulären Immunreaktion hervorruft, wobei Proliferationshemmer wie 6-Merkaptopurin keinen nennenswerten Effekt erkennen lassen. Die Ergebnisse wurden am gleichen Experimentaltier auch von anderen Autoren bestätigt. So beobachteten Berenbaum und Brown[2,3] daß mit 6-Merkaptopurin die Beeinflussung der humoralen Immunantwort nur durch subtoxische Dosierung zu erzielen ist. Auch Finger[6] berichtete in seiner Arbeit über die Depression der primären Immunitätsreaktion durch 6-Merkaptopurin und Cyclophosphamid bei verschiedenen Tierarten, daß bei der Maus der immunologische Depressionseffekt durch 6-Merkaptopurin nur bei Applikation hoher Dosen auftritt, wohingegen er sich bei Meerschweinchen und Ratten überhaupt nicht nachweisen läßt. Durch Cyclophosphamid konnte eine Hemmung der Produktion zirkulierender Antikörper sowohl bei Ratten, Mäusen, Meerschweinchen als auch bei Kaninchen nachgewiesen werden, wenn auch bei den einzelnen Spezies verschieden hohe Dosen angewandt werden mußten.

Die bisher zitierten Befunde stehen in einem scheinbaren Gegensatz zu den Untersuchungsergebnissen von Schwartz und Mitarbeitern[17,18] am Kaninchen, wobei es ihnen gelang, mit einer 13 Injektionen umfassenden Serie von 6 mg 6-Merkaptopurin/kg Körpergewicht/Tag, beginnend am Tag der Antigenapplikation, während einer 25 tägigen Beobachtungszeit, die Bildung humoraler Antikörper total zu unterdrücken. Als Antigen diente ihnen menschliches Serumalbumin. Später wurde berichtet(Šterzl[20]), daß sich die Bildung spezifischer Agglutinine gegen Salmonella paratyphy B bei jungen

Kaninchen durch 6-Merkaptopurin unterdrücken läßt. Diese beim ersten Aspekt widersprüchlich scheinenden Befunde lassen zumindest zwei Möglichkeiten der Deutung zu. Einerseits könnte 6-Merkaptopurin bei den einzelnen Spezies unterschiedlichen pharmakokinetischen Mechanismen unterworfen sein,d.h. die Aktivierung der Substanz bzw. deren Metabolisierung wäre bei den untersuchten Spezies verschiedenartig. Zum zweiten könnten aber auch andersartige biologische Voraussetzungen für die unterschiedliche Wirksamkeit von 6-Merkaptopurin verantwortlich sein. Letzteres wäre z.B. dann der Fall,wenn die immunkompetenten Lymphozyten der Kaninchen eine sehr kurzlebige Zellpopulation darstellten,so daß die antiproliferative Wirkung von 6-Merkaptopurin ausreichte,um die klonale Vermehrung von "X-Zellen" und damit die Bildung von "Y"- bzw. "Z-Zellen" zu verhindern.
Gegen die Möglichkeit einer andersartigen Pharmakokinetik spricht die Tatsache,daß sowohl bei der Maus als auch beim Kaninchen Applikation von 6-Merkaptopurin eine zahlenmäßige Dezimierung von Zellen des weißen Blutbildes bewirkt. Diese Ergebnisse der Therapie weisen also auf eine pharmakologische Wirksamkeit von 6-Merkaptopurin in beiden Spezies hin. Daß beim Kaninchen im Gegensatz zur Maus zusätzlich eine Immunsuppression zu beobachten ist,könnte nun,wie oben erwähnt,darin begründet sein,daß bei dieser Spezies die immunkompetenten Zellen in den kurzlebigen Zellpopulationen zu suchen sind,die 6-Merkaptopurin - wie oben diskutiert - besonders treffen müßte.
Zur Klärung dieser Frage soll nun im Folgenden eine autoradiographische Lebensdauerbestimmung der Zellen des weißen Blutbildes vom Kaninchen vorgenommen werden.Der Einfluß von 6-Merkaptopurin und Cyclophosphamid auf die peripheren Leukozyten und auf die Antikörperbildung beim Kaninchen sollen diesen Befunden gegenübergestellt werden.

B. Experimenteller Teil

B1 Autoradiographische Bestimmung des Lebensalters einzelner Leukozytenfraktionen.

I. Methodik

Versuchstiere. Für die Experimente wurden zwei männliche je ca. 2,7kg schwere Kaninchen verwendet. Die Tiere erhielten Altromin und Wasser und wurden in Einzelkäfigen gehalten.

Radioaktivität. Als radioaktives Agens kam Tritium-markiertes Thymidin (im Folgenden H^3Thymidin bezeichnet), das vom radiochemical center, Amersham, England bezogen wurde, zur Anwendung. Beide Tiere erhielten eine Tagesdosis von 0,5 μCi H^3Thymidin/gramm Körpergewicht, die in je 12 stündigen Zeitabständen während der Dauer von 4 Tagen in die marginale Ohrvene injiziert wurde. Die native Lösung mit einer spezifischen Aktivität von 5,0 Ci pro mM wurde dabei mit aqua dest. zu einer Lösung verdünnt, die pro ml die Aktivität von 250 μCi enthielt.

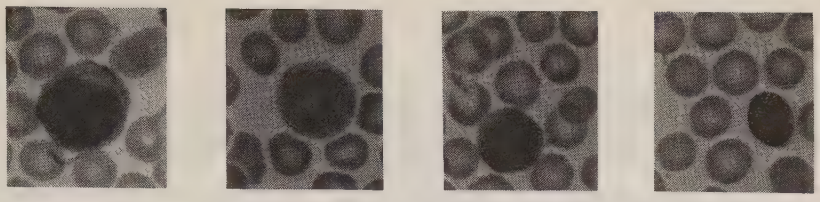
Durchführung der Versuche. Blutausstriche wurden angefertigt 12 Stunden nach der ersten Injektion, dann über eine Dauer von 11 Tagen alle 24 Stunden und bis zum Ende der 6 1/2 wöchigen Beobachtungszeit in größer werdenden Abständen. Die Ausstriche wurden mit Kodak AR 10 Film beschichtet und bei -10°C für 40 Tage inkubiert. Danach wurden die Praparate 4 min bei 18°C entwickelt, etwa 20 min fixiert und anschließend einer Hämatoxilin-Eosin-Färbung unterzogen.

Zur Beurteilung kam die radioaktive Markierung der im Folgenden näher zu beschreibenden Zelltypen des weißen Blutbildes. (Abb. 2) Die großen mononukleären Zellen, zu denen auch die Monozyten gerechnet werden, imponieren durch reichlich vorhandenes helles Cytoplasma und große aufgelockerte Kerne. Sie erreichen oder übersteigen die Größe der Granulozyten. Die Grenze zwischen

mittleren und kleinen mononukleären Zellen ist schwierig zu ziehen. Letztere haben dicht gepackte stark basophile Kerne,kaum Cytoplasma und liegen in der Größenordnung von Erythrozyten,während die mittleren größer sind und immer deutlich Cytoplasma aufweisen.
Im Einzelnen wurden nun pro Tier und Entnahmetag von zwei verschiedenen Ausstrichen 200 weiße Zellen differenziert und die Körnchenzahl als Maß für die Stärke der radioaktiven Markierung gezählt. Als spezifische Markierung wurden nur solche Granula gewertet,die sich in den Kernen der Zellen darstellten. Zur Korrektur des unvermeidlichen Backgrounds,der durch das Mitlaufen eines nicht markierten Präparates ermittelt wurde,galten nur jene Zellen als markiert,die mehr als 4 Granula pro Kern enthielten.(Abb.3)

II. Ergebnisse und graphische Darstellung

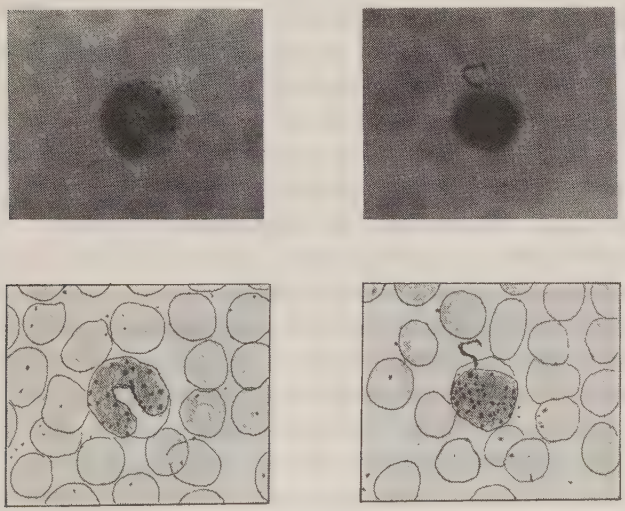
12 Stunden nach der ersten Injektion sind bereits ca 50% der Granulozyten,30% der großen mononukleären und etwa 15% der mittleren und kleinen mononukleären Zellen markiert. Bis zum vierten und letzten Tag der Injektion steigen die Zahlen auf fast 100% bei den Segmentkernigen, auf etwa 70% bei den großen Mononukleären und auf 55% bei den übrigen an. Drei Wochen später sieht es dann so aus, daß die Granulozyten und die großen Mononukleären noch zu etwa 30% und die übrigen zu 20% markiert sind. (Abb.4 und Tabelle I im Anhang)
Um die Zahl der Granula in den Zellkernen graphisch darzustellen,werden nun fünf Gruppen mit unterschiedlicher Beladung gebildet: Kerne mit 0-4 Körnchen,die als unmarkiert angesehen werden (Background); solche mit 5-8,9-15, 16-25, und über 25 Körnchen. Viermal wird der Mittelwert von je drei Entnahmetagen,dann im Abstand von 6, 9 und 18 Tagen bestimmt und in Form von Säulen dargestellt. (Abb.5 und Tabelle II im Anhang)
Es zeigt sich,daß der Anstieg hochmarkierter Zellen (mehr



- Abb. 2 -

Abb. 2 :

Zelltypen des weißen Blutbildes,deren radioaktive Markierung zur Beurteilung kommt. - Von links nach rechts: große mononukleäre Zelle; Granulozyt; mittlerer Lymphozyt; kleiner Lymphozyt.



- Abb. 3 -

Abb. 3 :

Radioaktiv markierte Zellen des weißen Blutbildes vom Kaninchen. links: Granulozyt; rechts: mittelgroßer Lymphozyt; Die Granula,die als Maß für die radioaktive Markierung gelten können, reichern sich vorwiegend in den Kernen der Zellen an.

als 15 Körnchen) und das Minimum der unmarkierten etwa mit dem Gipfel der Absolutwerte in Abb.4 zusammenfällt.

III. Diskussion der Ergebnisse

Die tatsächliche Lebenszeit von Zellen ließe sich nur dann exakt bestimmen,falls es gelänge,den Zeitpunkt des Zelltodes zu registrieren.(Cottier et al.[5])Mit der Methode, die oben beschriebenem Experiment zugrunde liegt,kann man allerdings - basierend auf folgende Überlegungen - relative Aussagen treffen.
Die bei der Zellteilung ablaufende sog. semikonservative Replikation der DNS erfolgt durch Trennung der beiden DNS Stränge und Synthese von zwei komplementären Gegensträngen. Ein dazu notwendiger Baustein ist das Thymidinnukleotid,das bis auf einen verschwindend kleinen Anteil nur in der DNS vorkommt und auch nach parenteraler Zufuhr in diese eingebaut wird. Isotopenversuche ergaben,daß die DNS einer sich nicht teilenden Zelle einen äußerst geringen Umsatz aufweist. Würde man nun kontinuierlich H^3Thymidin infundieren,so könnte man sagen, daß eine markierte Zelle die Substanz aufgenommen haben muß und zwar im Zeitpunkt ihres Entstehens,und daß sich eine nicht markierte Zelle in diesem Zeitraum nicht geteilt hat und demgemäß "älter" als die markierte ist. Schickt sich eine markierte Zelle zur Teilung an,wird sie nach dem Prinzip der semikonservativen Replikation der DNS Radioaktivität mit in die Tochterzellen geben. Diese sind infolgedessen ebenfalls markiert,jedoch,sofern während des Teilungsschrittes kein Thymidin im Serum vorgelegen hat,in deutlich geringerer Intensität als die Mutterzelle. Granulozyten stellen zelluläre Endstadien dar,die micht mehr teilungsfähig sind. Bei ihrem Zelltod wird,ebenso wie beim Absterben anderer markierter Zellen Thymidin freigesetzt,das bei der Zellbildung an beliebiger Stelle des Organismus erneut inkorporiert

werden kann. Letzteres wird als Reutilisation bezeichnet. Diesem Neueinbau ist zuzuschreiben, daß die Granulozyten auch lange Zeit nach Beendigung der H^3Thymidininjektionen noch mit z.T. niedrigen Markierungsintensitäten vorhanden sind. Demgegenüber ist das lange Verweilen von Zellen mit hoher Markierungsintensität nicht als Ausdruck einer Reutilisation zu werten, sondern als Zeichen dafür, daß diese Zellen nach ursprünglicher Inkorporation durch keine oder nur wenige Teilungsschritte gelaufen sind. - Zusammenfassend kann man sagen, daß die Persistenz und Intensität der Markierung abhängig ist von drei Faktoren: 1. Lebensdauer der Zelle - 2. Zahl der Teilungsschritte nach Markierung - 3. Reutilisation, -

Stellt man nun die im Experiment gefundenen Ergebnisse solchen aus anderen Arbeiten gegenüber, so ergibt sich folgendes Bild: Einen Tag nach der letzten H^3Thymidininjektion sind beim Kaninchen 100% (86,5% beim zweiten Tier) der Granulozyten, 71% (70,5%) der großen mononukleären und 55% (52,5%) der mittleren und kleinen mononukleären Zellen markiert. Trepel und Begemann[23] fanden unter gleichen Versuchsbedingungen und zum gleichen Meßpunkt bei der Ratte auch 87,2% der Granulozyten und 69% der großen mononukleären Zellen markiert, aber bei den mittleren und kleinen Lymphozyten nur etwa 31%. - Noch deutlicher wird der Unterschied, wenn man die an der Maus erhobenen Befunde zum Vergleich heranzieht. Hier gelang es über eine Zeitspanne von 30 Tagen selbst mit Dauerinfusion - wobei theoretisch jede sich teilende Zelle Radioaktivität aufnehmen sollte - nicht mehr als 25% aller Lymphozyten zu markieren. (Lemmel, Fichtelius[11]) Berücksichtigt man diese Ergebnisse bei der Beurteilung der immunsuppressiven Wirkung von 6-Merkaptopurin und Cyclophosphamid, so stellt das Kaninchen also nur in sofern eine Besonderheit dar, als daß seine Lymphozyten, unter denen die immunkompetenten Zellen zu suchen sind,

	Prozentsatz markierter Zellen		
	Segmentk.	große Mononukl.	mittl.u.kl. Mononukl
Kaninchen			
Tier I	100 %	71 %	55 %
Tier II	86,5%	70,5%	52,5%
Ratte	87,2%	69 %	31 %

	Prozentsatz markierter Zellen
	alle Lymphozyten
Maus	25%

- Abb. 4a -

Abb. 4a :

Prozentualer Anteil markierter Zellen des weißen Blutbildes von Ratten und Kaninchen nach 4 tägiger, im Abstand von jeweils 12 Stunden erfolgter, H^3Thymidininjektion. - Der angegebene Wert bei der Maus gibt den prozentualen Anteil aller markierter Lymphozyten nach 30 Tagen Dauerinfusion von H^3Thymidin wieder. -

Abb. 4 :

Prozentsatz markierter Zellen in zeitlicher Relation zu 8 maliger H^3Thymidininjektion. - Die Injektionen erfolgten 12 stündig vom 1. bis zum 4. Tag. Dargestellt sind die radioaktiv markierten Granulozyten (- -; o),die großen (——;) sowie die mittleren und kleinen (-·-;) mononukleären Zellen. (Zur besseren Übersichtlichkeit sind zu den entsprechend eingetragenen Meßpunkten Polynome 4.Grades eingezeichnet).

Abb. 5 :

Zeitliche Änderung der Intensitätsverteilung der radioaktiven Markierung innerhalb der einzelnen Zellpopulationen. - Als Maßstab für die Intensität gilt die Anzahl der Granula pro Zellkern,die in fünf Gruppen unterteilt ist: 0-4 Körnchen; 5-8; 9-15; 16-25; und über 25 Körnchen. Man erkennt,daß das Ansteigen des Prozentsatzes radioaktiv markierter Zellen (in Abb. 4) zeitlich mit einer hohen Körnchenzahl - also hoher Intensität - (in Abb. 5) zusammenfällt.

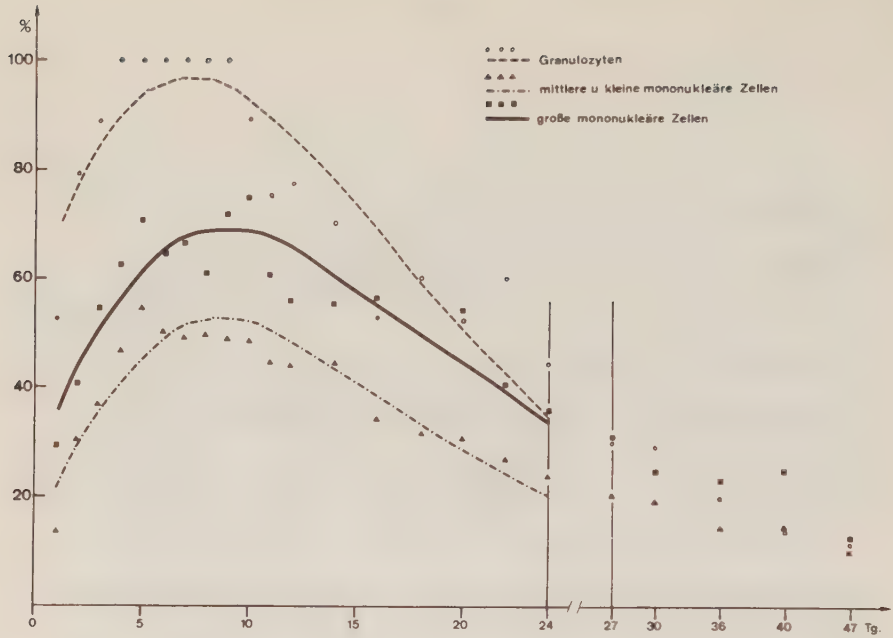


Abb. 4 - erstes Tier -

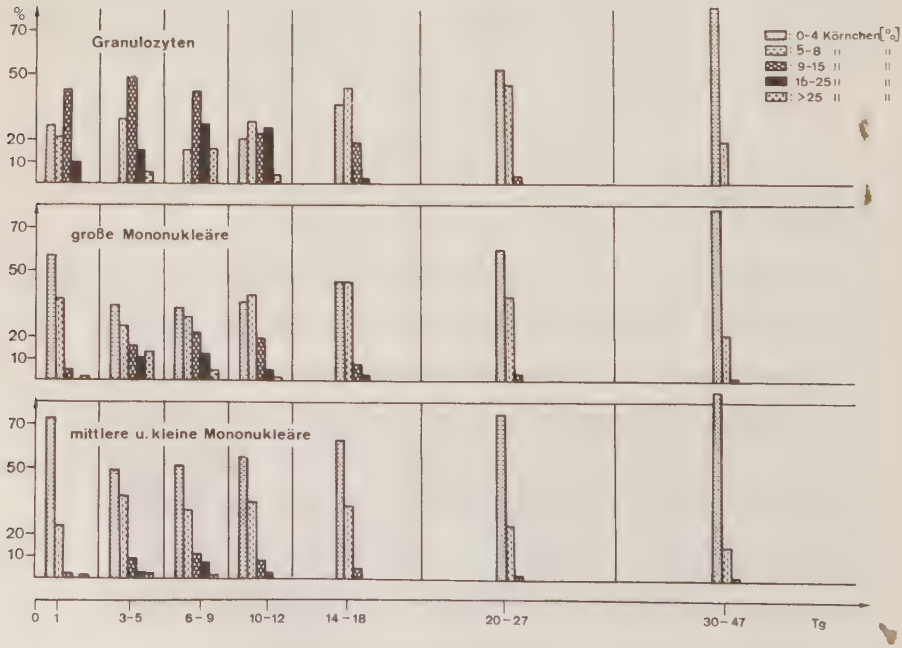


Abb. 5 - erstes Tier -

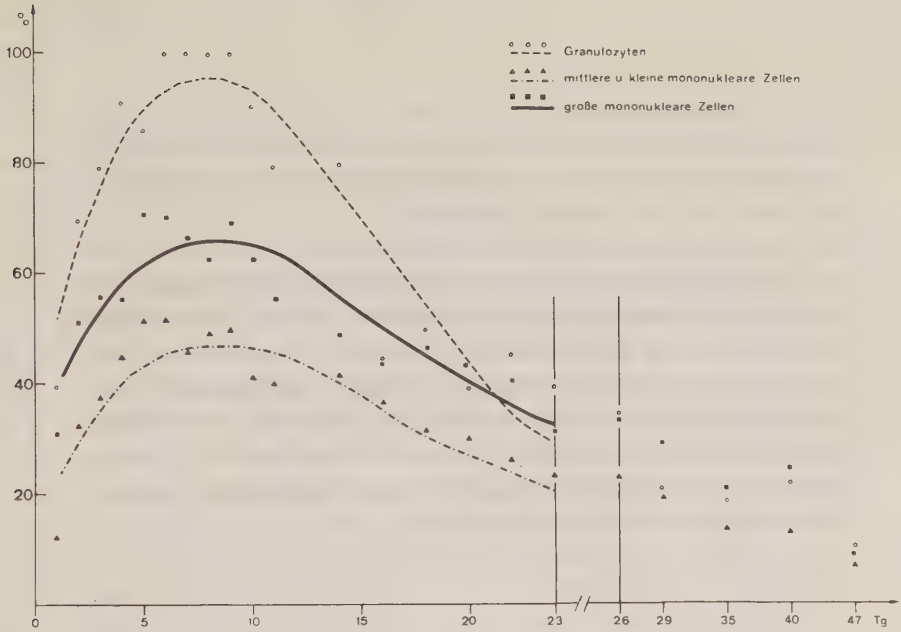


Abb. 4 - zweites Tier -

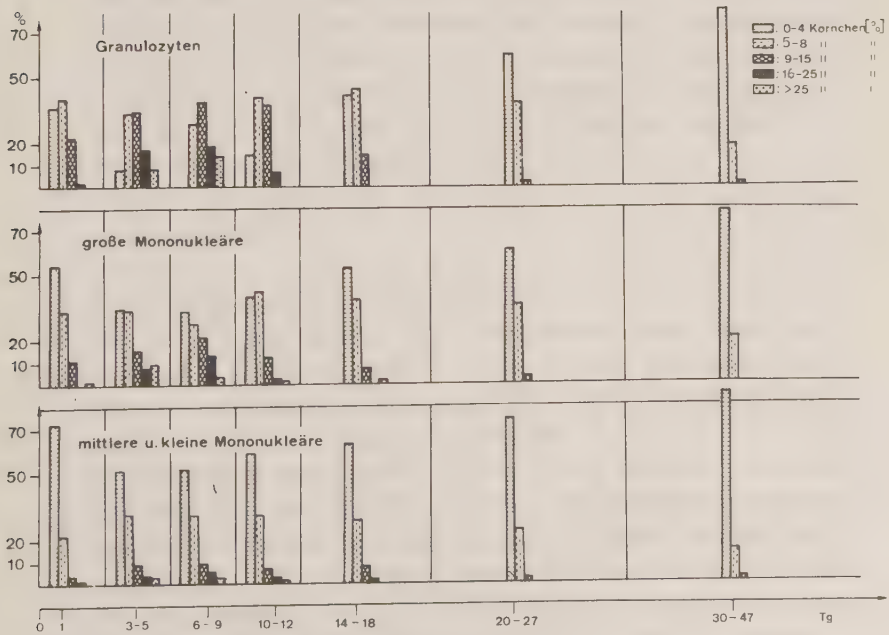


Abb. 5 - zweites Tier -

in Gegenüberstellung zu Ratte und Maus wesentlich kurzlebiger sind und demnach auf antiproliferative Substanzen sehr gut ansprechen sollten.
Im Folgenden muß aber nun bewiesen werden,daß eine Therapie mit 6-Merkaptopurin zu einer Verarmung weißer Zellen im peripheren Blut des Kaninchens führt und daß dies, im Gegensatz zu Untersuchungen bei der Maus,insbesondere auch die Lymphozyten betrifft. Ferner sollte auch hier die Gabe von 6-Merkaptopurin kurzlebige Zellen stärker treffen als Cyclophosphamid,da im letzteren Fall der gesetzte Defekt durch schnelle Proliferation auch schnell wieder kompensiert werden kann.

B2. Der Einfluß von 6-Merkaptopurin und Cyclophosphamid auf die humorale Immunantwort sowie auf das Differentialblutbild beim Kaninchen.

Die Aufgabe des humoralen Immunsystems ist es - wie eingangs erwähnt - nach Begegnung mit dem Antigen spezifisch gegen dieses gerichtete Antikörper zu bilden. Das Ausmaß dieser Produktion,sowie ihre Hemmung mittels immunsuppressiv wirksamer Pharmaka läßt sich quantitativ durch die Kontrolle des Titerverlaufs erfassen.Es soll nun untersucht werden,ob 6-Merkaptopurin und Cyclophosphamid einen Einfluß auf die Antikörperbildung haben,ohne daß diese Substanzen hinsichtlich ihrer Effektivität einander gegenübergestellt werden sollen. Dies könnte nur dann geschehen,falls gleiche Ausgangsbedingungen vorlägen,wie Verabreichung isotoxischer Äquivalente (Berenbaum und Brown[3]) und Berücksichtigung des Wirkungsoptimums,das von der zeitlichen Relation zwischen Antigengabe und Therapiebeginn abhängt.(Chanmoughan und Schwartz[4]) In den vorliegenden Experimenten kommen Schafserythrozyten als Antigen zur Anwendung, und die Antikörper werden im Hämagglutinationstest bestimmt.

I. Methodik

Versuchstiere. Als Versuchstiere dienten 14 Kaninchen beiderlei Geschlechts mit Körpergewichten zwischen 2,5 und 3 kg. Sie erhielten Altromin und Wasser und wurden in Einzelkäfigen gehalten. Nach elftägiger Therapie kamen zwei Tiere ad exsitum.
Antigen. Die Immunisierung der Tiere erfolgte mit Hammel-Erythrozyten (SRBC), die von der Firma Biologische Arbeitsgemeinschaft,Lich/Hessen,in Alseverlösung bezogen und vor der Injektion 3 mal in Phosphatpuffer gewaschen wurden. Die Konzentration des für alle Tiere gleichen Injektionsvolumens wurde so gewählt, daß die

Antigendosis pro Individuum bei etwa 10^{10} SRBC lag. Die dadurch nicht exakt definierte Antigenmenge in Relation zum Körpergewicht mag für geringfügige Unterschiede in den Titerhöhen der Kontrolltiere zwischen den beiden Experimentalgruppen verantwortlich sein.

Immunisierung und Therapie. Jedem Kaninchen wurde am ersten Tag des Experiments eine Antigendosis von 10^{10} SRBC in die marginale Ohrvene injiziert. Ab dem zweiten Tag erhielten 5 Tiere der Therapiegruppe I zusätzlich 6 mg 6-Merkaptopurin pro kg Körpergewicht und 5 weitere Tiere der Therapiegruppe II 6mg Cyclophosphamid pro kg Körpergewicht. Die intravenöse Applikation dieser beiden Pharmaka erfolgte jeweils im Abstand von 24 Stunden über eine Dauer von 10 Tagen. Die Kontrollgruppe mit 4 Tieren erhielt kein Medikament.

Antikörperbestimmung. Vor der Antigeninjektion wurde von jedem Tier Serum gewonnen,um die Ausgangswerte für die Hämagglutinationstiter nach Immunisierung zu bestimmen. Während einer Beobachtungszeit von ca. 4 Wochen wurden dann von jedem Kaninchen an 8 verschiedenen Entnahmetagen Blut gewonnen durch Incision von gestauten marginalen Ohrvenen. Die Titration des durch Zentrifugation gewonnenen Serums erfolgte dann nach der Mikrohämagglutinationsmethode (Takatsy[22]) mit dem Mikrotitersystem (Flow Laboratories) in Titerplatten (U-Form) von der Firma Greiner. 25 l hitzeinaktiviertes Serum (30 min bei 56°C im Wasserbad) wurde einer Serienverdünnung in 25 l Phosphatpuffer (Zusatz 1% normales Kaninchenserum) unterzogen. Jeder Verdünnungsstufe wurden 25 l einer 1%igen Suspension von SRBC zugefügt. Nach einer Inkubationszeit von einer Stunde bei Zimmertemperatur und über Nacht bei 4°C erfolgte das Ablesen der Platten. Standen diese unter einem Winkel von 45°,so zeigten die Erythrozyten nach kurzer Zeit bei negativem Ausfall ein homogenes Wanderungsverhalten auf dem Boden der Titerplatten. Als Titer wurde diejenige Verdünnungsstufe abgelesen,bei

der diese Homogenität auch nur geringfügig gestört war.
Bestimmung der Leukozyten im peripheren Blut. Während der Beobachtungszeit von vier Wochen wurde an den Tagen der Blutentnahme zu den Serumbestimmungen auch die jeweilige Gesamtzahl der Leukozyten (konventionelle Zählung in der Neubauer Kammer) bestimmt und ein Blutausstrich zur Differenzierung der Leukozytenpopulationen angefertigt und nach May Grünwald und Giemsa gefärbt. Diese Zellpopulationen wurden entsprechend den Angaben auf Seite 6 unterteilt und die Absolutzahl der einzelnen Populationen/cm^3 berechnet.

II. Ergebnisse und graphische Darstellungen

a) Titerverlauf

Eine Woche nach Immunisierung mit Schafserythrozyten nach oben angegebener Methode lassen sich bei unbehandelten Kontrolltieren Antikörper noch bis zu einer Serumverdünnung von 1:128 (= Titer lg 7) nachweisen. Bis zum Ende der 26 tägigen Beobachtungszeit steigt der Titer nur noch unwesentlich an. Es kann nun gezeigt werden, daß sowohl unter Behandlung mit 6-Merkaptopurin als auch mit Cyclophosphamid die Ausbildung eines Antikörpertiters deutlich vermindert ist und zwar um mehr als 2 Titerstufen. Anders ausgedrückt bedeutet dies eine Reduktion der Immunantwort auf weniger als 25%. Es läßt sich also somit für beide Substanzen ein immunsuppressiver Effekt feststellen.

b) Graphische Darstellung der Titerwerte

In Abb.6 verbinden die den Titerverlauf darstellenden Kurven jeweils die geometrischen Mittelpunkte aus den Doppelwerten einer Versuchsgruppe (also 8 bzw. zwei mal 10 Einzeltiter) wie sie am Entnahmetag bestimmt wurden. (siehe auch Tabelle III im Anhang!) Zur Berechnung kamen die reziproken Titerwerte, deren Mittelwert auf Titer log 2 rückgerechnet wurden. - Da es sich al-

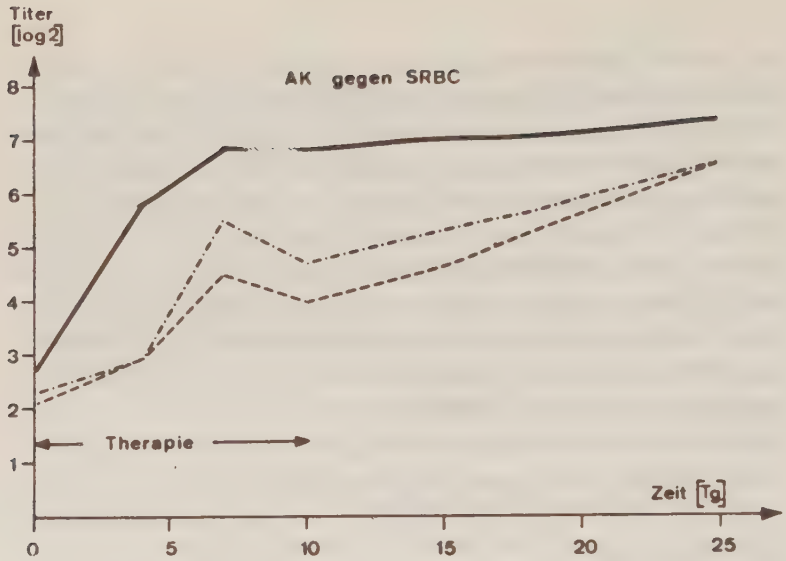


Abb. 6

Abb. 6 :

Entwicklung des Antikörpertiters nach Immunisierung mit 10^{10} SRBC. - Die den Titerverlauf darstellenden Kurven verbinden jeweils die geometrischen Mittelpunkte aus den Doppelwerten einer Versuchsgruppe. - Die Ausbildung von Hämagglutininen erfolgt in stärkstem Maße bei den Kontrolltieren (——). Sowohl unter 6-Merkaptopurinbehandlung (----),6mg/kg Körpergewicht, als auch unter Cyclophosphamidbehandlung (- - -), 6mg/kg Körpergewicht,tritt eine Depression der Immunantwort um mehr als zwei Titerstufen auf.

so bei den Titerwerten um den negativen Logarithmus zur Basis 2 handelt und nicht um eine lineare Zahlenreihe,läßt sich die statistische Streubreite nicht nach dem Prinzip der Standartdeviation berechnen.Aus diesem Grund sind alle Einzelbestimmungen in Abb. 7 mit ihrer Zuordnung zu den jeweiligen Versuchstieren dargestellt.

c) Veränderungen im Differentialblutbild

Unter Therapie von 6-Merkaptopurin kommt es zu einem deutlichen Abfall sowohl der großen als auch der mittleren und kleinen mononukleären Zellen (Tabelle IV im Anhang). Dieser Effekt tritt bei allen Tieren dieser Versuchsgruppe auf; in einem Fall kommt es zu einer Dezimierung der Gesamtleukozyten auf 25% des Ausgangswertes und auf 19% in einer Einzelpopulation. Bei diesem Kaninchen findet man zusätzlich eine hochgradige Anämie und es verstirbt nach 11 Tagen. Nach Absetzen der Substanz ist ein starkes Ansteigen der Zellzahlen festzustellen,die teilweise noch am Ende der Beobachtungszeit anhält. Letzteres ist in ähnlicher Weise auch am Meerschweinchen zu beobachten.(Kaboth et al.[9]) Während der Behandlung mit Cyclophosphamid werden ebenfalls die mittleren und kleinen mononukleären Zellen reduziert. Ein Absinken der großen ist in dieser Gruppe nicht für jedes Einzeltier nachweisbar,auch wenn sich eine entsprechende Tendenz vermuten läßt. Alle Zellpopulationen erfahren auch hier nach Beendigung der Therapie eine mehr oder weniger starke Zunahme im peripheren Blut. - Lediglich ein Tier,welches allerdings erkrankt und nach 10 Tagen ad exsitum kommt,zeigt diese Veränderungen nicht. Bei einem gruppenähnlichen Verhalten hinsichtlich seiner Antikörperproduktion fiel dieses Tier durch exzessive Leukozytose unter Beteiligung aller differenten Populationen auf. - Die Granulozyten sind in beiden Experimental-

Abb. 7 :

Schematische Aufzeichnung aller Titerbestimmungen. - Für jeden der 7 Entnahmetage (0; 4; 7; 10; 15; 18; 25;) steht jeweils eine waagerechte Spalte mit 3 Unterteilungen: von oben nach unten: Kontrollgruppe (K) Tiere Nr.1-4,6-Merkaptopuringruppe (6MP) Tiere Nr. 5-9, Cyclophosphamidgruppe (CY) Tiere Nr. 10-14. Die senkrechten Spalten bezeichnen die Titerstufen (2,3,4,5,6,7,8), in die die ermittelten Doppelwerte mit der Tier Nr. des betreffenden Kaninchens eingetragen sind

ENTNAHMETAGE		TITER (log 2)						
		·2	3	4	5	6	7	8
0	K	1·4·4	1·2·2·3·3					
	6MP	5·6·6·7·7·8·8 9·9	5					
	CY	10·10·11·11 12·13·13·14	12·14					
4	K			1·1	3·4	2·3·4	2	
	6MP	7·9·9	5·6·6·7·8·8	5				
	CY	11	10·10·11·12 12·13·13·14·14					
7	K				4	1·3·4	2·2·3	1
	6MP	9	7·9	7·8·8	5·6·6	5		
	CY				10·10·11·11 12·14	12·13·13 14		
10	K					1·3·4·4	1·2·3	2
	6MP	7·9·9	7·8	5·8	5·6·6			
	CY		11	11	10·10·12·12 13·13·14·14			
15	K					3·4	·1·1·2·3·4	2
	6MP			5·7·7·8	5·6·6·8			
	CY				10·10·11·11 14·14	12·12		
18	K					3·3·4·4	1·2	1·2
	6MP			7	5·5·7·8·8	6·6		
	CY				10·10·11·14	11·12·12 14		
25	K					4	1·1·2·3·4	2·3
	6MP				7	5·7·8	5·6·6·8	
	CY					10·10·11 12·12	11·14·14	

- Abb. 7 -

gruppen unerwarteterweise angestiegen und zwar unter Cyclophosphamidbehandlung noch wesentlich stärker als unter 6-Merkaptopurin,was eventuell in der extrem schnellen Proliferation dieser Zellen begründt sein mag.(Tabelle IV im Anhang)

d) Graphische Darstellung der Veränderungen im Differentialblutbild.

In den Abb. 8 bis 11 ist die zeitliche Änderung einmal der mittleren und kleinen und dann der großen mononukleären Zellen gegenüber den Ausgangswerten vom Tage 0 (die gleich 100% gesetzt sind) dargestellt. Abb. 8 zeigt die Einzelkurven der 4 Kontrolltiere,die kein Medikament erhielten und gibt somit einen Maßstab für die normale Schwankungsbreite der Zellpopulationen. Verglichen hiermit weisen die beiden Therapiegruppen ein deutliches Absinken der Zellen während der Behandlung und ein mehr oder weniger starkes Ansteigen danach auf. In Abb. 11 sind die Mittelwertskurven der drei Versuchsgruppen eingezeichnet. (Tabellen IV - VII im Anhang)

e) Gegenüberstellung von Titerverlauf und zeitlicher Änderung im Differentialblutbild.

Stellt man nun den Titerverlauf der zeitlichen Änderung des prozentualen Anteils der genannten Zellpopulationen im Differentialblutbild gegenüber,so ist folgendes festzustellen: Das Absinken des Antikörpertiters als Merkmal des immunsuppressiven Effekts fällt bei beiden Testgruppen mit einer Reduktion der mittleren und kleinen mononukleären Zellen zusammen. Die Großen sind in dieser Darstellung nur nach 6-Merkaptopurinbehandlung sichtbar vermindert. (Abb. 12)

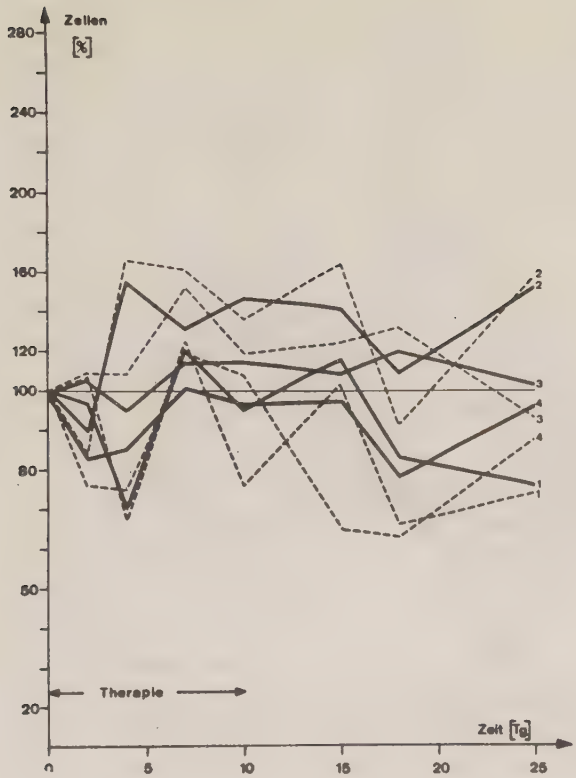


Abb. 8

Abb. 8 :

Prozentuale Änderung von mittleren und kleinen (——) sowie großen (---) mononukleären Zellen gegenüber den Ausgangswerten (die gleich 100% gesetzt sind). - Abb. 8 zeigt das Verhalten der genannten Zelltypen bei unbehandelten Kontrolltieren. Die hier zu beobachtenden Schwankungen können als "physiologisch" gelten und dienen als Vergleichsbasis zu jenen,die nach Applikation der Testsubstanzen auftreten.

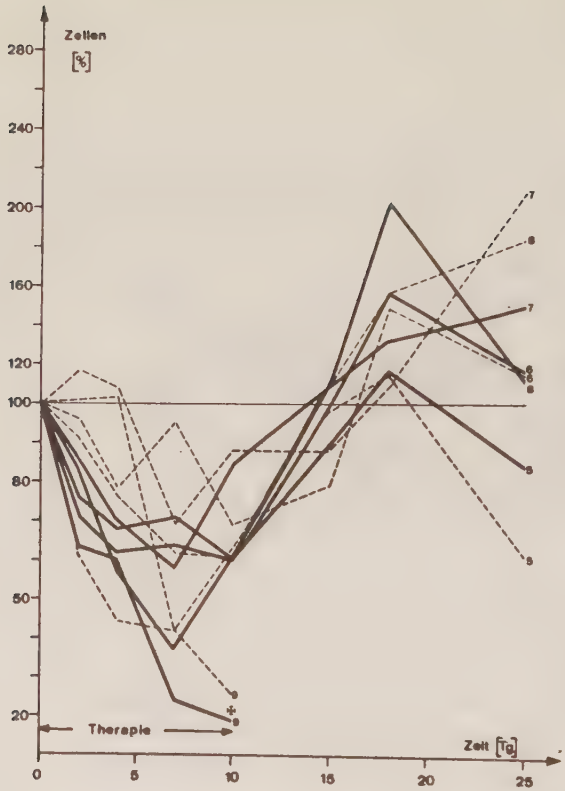


Abb. 9

Abb. 9 :

Prozentuale Änderung von mittleren und kleinen (——) sowie großen (---) mononukleären Zellen gegenüber den Ausgangswerten (die gleich 100% gesetzt sind). - Abb. 9 zeigt das Verhalten der genannten Zelltypen unter und nach Behandlung mit 6-Merkaptopurin. Es ist zunächst eine deutliche Reduktion aller Zellen zu beobachten. Danach kommt es zu einem Ansteigen der Zellzahlen über den Ausgangswert.

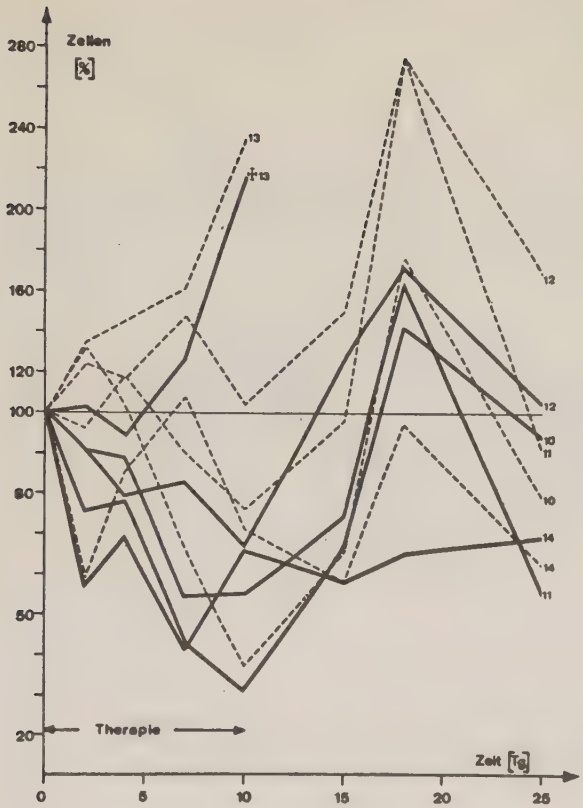


Abb. 10

Abb. 10 :

Prozentuale Änderung von mittleren und kleinen (——) sowie großen (---) mononukleären Zellen gegenüber den Ausgangswerten (die gleich 100% gesetzt sind). - Abb. 10 zeigt das Verhalten der genannten Zelltypen unter und nach Behandlung mit Cyclophosphamid. Für mittlere und kleine mononukleäre Zellen ist zunächst eine Reduktion und anschließend ein Ansteigen der Zellzahlen zu beobachten. Für die großen mononukleären Zellen ist zwar eine gleichartige Tendenz zu vermuten; sie tritt aber nicht bei jedem Tier deutlich in Erscheinung.

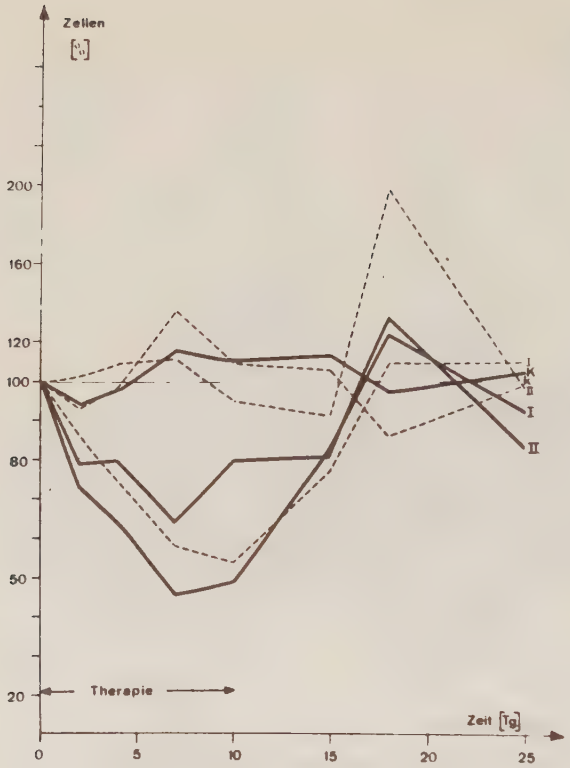


Abb. 11

Abb. 11 :

Prozentuale Änderung von mittleren und kleinen (——) sowie großen (---) mononukleären Zellen gegenüber den Ausgangswerten (die gleich 100% gesetzt sind). - In Abb. 11 sind für alle drei Versuchsgruppen Mittelwertskurven erstellt. (K= Kontrollgruppe; I= 6-Merkaptopuringruppe; II= Cyclophosphamidgruppe). In beiden Therapiegruppen wird eine deutliche Reduktion von mittleren und kleinen mononukleären Zellen sichtbar,wobei die großen nur durch 6-Merkaptopurin signifikant zahlenmäßig verringert werden.

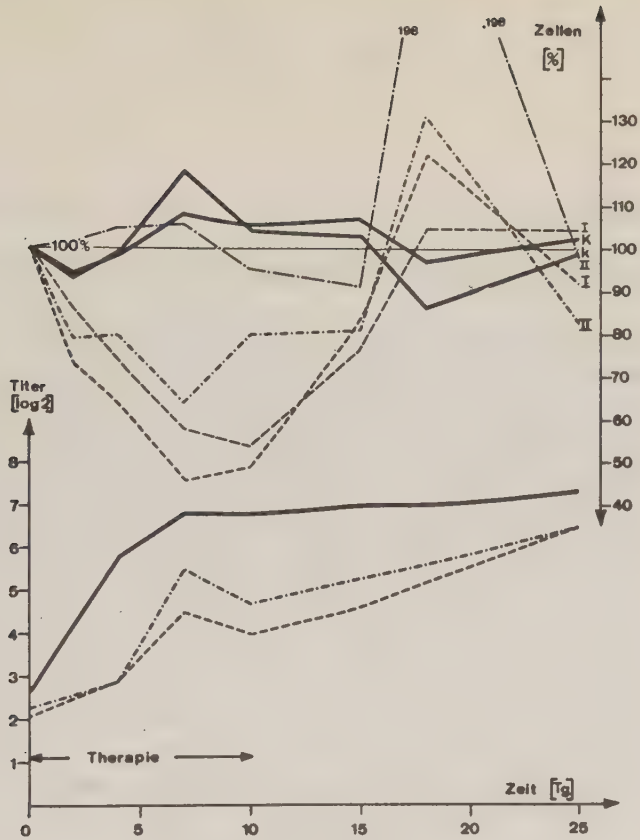


Abb. 12

Abb. 12 :

Gegenüberstellung von Titerverlauf und zeitlicher Änderung der Zellpopulationen im Differentialblutbild. - Der obere Teil entspricht Abb. 11 und stellt die prozentuale Änderung der mittleren und kleinen sowie der großen mononukleären Zellen dar. - (mittl.u.kl. der Kontrolltiere: ——K; mittl.u.kl. der 6-Merkaptopuringruppe: ---I; mittl.u.kl. der Cyclophosphamidgruppe:—·—II; große der Kontrolltiere:——k; große der 6-Merkaptopuringruppe: —— ——I; große der Cyclophosphamidgruppe:——·——II) Im unteren Teil der Abbildung ist der Titerverlauf eingezeichnet.(——: Kontrolltiere; —·—·—: Cyclophosphamidtiere; ----: 6-Mercaptopurintiere.)

C. Diskussion

I. Zusammenfassende Beurteilung der eigenen Ergebnisse

Wie die vorgelegten autoradiographischen Untersuchungen ergeben, sind alle Zellpopulationen des weißen Blutbildes vom Kaninchen wesentlich kurzlebiger als die von Meerschweinchen, Ratten oder Mäusen. Gerade diese Besonderheit scheint für die ausgesprochen gute immunsuppressive Wirkung von 6-Merkaptopurin bei dieser Spezies verantwortlich zu sein. Es kann gezeigt werden, daß unter Therapie mit dieser Substanz die immunkompetenten Lymphozyten (die wohl innerhalb mittlerer und kleiner mononukleärer Zellen zu suchen sind) sowie auch die großen mononukleären Zellen zahlenmäßig stark dezimiert werden. Auch Cyclophosphamidbehandlung reduziert in den vorliegenden Untersuchungen mittlere und kleine mononukleäre Zellen beim Kaninchen und - zwar weniger deutlich-auch die großen. Lemmel, Hurd und Ziff[10] konnten hingegen bei NZB Mäusen unter 6-Merkaptopurintherapie keine quantitativen Veränderungen der mittleren und kleinen Lymphozyten feststellen, während Cyclophosphamid zu einem deutlichen Absinken dieser Zellpopulationen der Maus führte. Auch beim Meerschweinchen ließ sich Ähnliches feststellen. (Schick et al.[15]) Da gerade bei diesen Spezies mit langlebigen immunkompetenten Lymphozyten 6-Merkaptopurin nur schwerlich die Ausbildung eines Antikörpertiters zu hemmen vermag, liegt die Vermutung nahe, daß 6-Merkaptopurin nur bei den Spezies immunsuppressiv wirken kann, bei denen die immunkompetenten Zellen zu den kurzlebigen Zellpopulationen gehören. Da Cyclophosphamid in seiner Wirkung im Wesentlichen zyklusphasenunabhängig ist, ist seine immunsuppressive Aktivität auch bei den Spezies erklärbar, deren immunkompetente Zellen zu den langlebigen Leukozytenpopulationen gehören.

II. Schlußfolgerungen

Der pharmakologische Effekt von Cyclophosphamid bzw. 6-Merkaptopurin wird bestimmt von einer Reihe von Faktoren,die je nach Zusammentreffen entweder eine gute immunsuppressive Wirkung (Aisenberg und Wilkes[1]) oder aber nur einen geringen Einfluß auf den Antikörperproduzierenden Apparat ermöglichen.Zu diesen Faktoren zählen unter anderen die therapeutischen Breiten der Pharmaka sowie die Proliferationskinetik derjenigen Zellen,die man angreifen will. Ferner ergibt sich hieraus und aus der biologischen Halbwertszeit der Pharmaka der günstigste Applikationsabstand der Substanz vom Moment der Immunisierung. Sind diese "Voraussetzungen zur Therapie" bekannt,so bleibt zu entscheiden,ob ein besserer Erfolg mit einer Zytotoxischen Substanz oder einer antiproliferativen zu erzielen ist. Über die möglichen Nebenwirkungen der Immunsuppressiva sagen die vorliegenden Untersuchungen nichts aus,obwohl auch diese den oben genannten Faktoren unterliegen müßten. Eigene Experimente am Kaninchen,die in dieser Arbeit nicht näher erörtert wurden,ergaben,daß nach 10 maliger Injektion von 5mg 6-Merkaptopurin pro kg Körpergewicht eine ausgeprägte Atrophie von Milz und Thymus und als Zeichen der Knochenmarksschädigung eine hochgradige Anämie eintraten. Dabei war hier der Injektionsabstand so gewählt,daß kein nennenswerter immunsuppressiver Effekt eintrat. - Auch beim Menschen wurden außer diesen beim Kaninchen eingetretenen Nebenwirkungen unspezifische allgemeine Immundefekte sowie u.U. eine Begünstigung des Tumorwachstums beobachtet. Eine Erörterung oder nähere Untersuchung dieser Probleme sollte nicht Aufgabe der hier vorgelegten Arbeit sein.

In den letzten Jahren haben 6-Merkaptopurin (bzw.Azathioprin) und Cyclophosphamid eine große Bedeutung

in der Behandlung immunpathologischer Erkrankungen des Menschen erlangt, obwohl ihr Einsatz in viel - facher Hinsicht problematisch und der therapeutische Erfolg wechselhaft ist. Trotz der scheinbar bestehenden Speziesunterschiedlichkeit im therapeutischen Erfolg der hier diskutierten Pharmaka, weisen die vorgelegten Untersuchungen darauf hin, daß die pharmakologische Wirksamkeit der Immunsuppressiva von allgemeingültigen biologischen Voraussetzungen abhängig ist. Eine genauere Erforschung der oben genannten Faktoren würde einen gezielten Einsatz der zu Verfügung stehenden Immunsuppressiva verbessern und ihre therapeutische Effizienz erhöhen.

D. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird zunächst die Lebensdauer der Leukozytenpopulationen des Kaninchens untersucht. Nach Injektion von H^3 Thymidin kann mittels Autoradiographie nachgewiesen werden, daß die untersuchten Populationen unterschiedliche Proliferationsraten aufweisen, daß aber auch die relativ langlebigsten Zellen, die mittleren und kleinen Lymphozyten, nach 8 Injektionen in je 12 stündigen Abständen bereits zu ca. 50% markiert waren.
Im weiteren wird der Einfluß von 6-Merkaptopurin und Cyclophosphamid auf die humorale Immunantwort sowie auf das Differentialblutbild am Kaninchen untersucht. Mit beiden Substanzen gelingt es, die Ausbildung eines Antikörpertiters nach Immunisierung mit Schafserythrozyten (SRBC) gleichermaßen zu unterdrücken. Im Differentialblutbild zeigt sich, daß unter Behandlung mit beiden Substanzen eine deutliche zahlenmäßige Reduktion mittlerer und kleiner Lymphozyten erfolgt, unter denen die immunologisch kompetenten Zellen zu suchen sind. Stellt man Titerverlauf und zeitliche Änderung im Differentialblutbild einander gegenüber, so wird deutlich, daß unter Behandlung mit 6-Merkaptopurin oder Cyclophosphamid die Hemmung der Antikörperbildung mit der Depression der Lymphozytenzahlen zeitlich parallel verläuft.
Diese Befunde geben eine Erklärung für die unterschiedliche immunsuppressive Wirksamkeit von 6-Merkaptopurin bei Kaninchen und Maus. Nach vorliegenden Befunden sind die Lymphozyten bei der Maus erheblich langlebiger, als es für die Lymphozyten des Kaninchens hier erstmals nachgewiesen wurde. Die kurzlebigeren Lymphozyten des Kaninchens sind auf Grund ihrer hohen Neubildungsrate durch eine antiproliferative Substanz wie 6-Merkaptopurin leichter zu treffen; die Immunreaktivität des Kaninchens ist daher durch 6-Merkaptopurin (im Gegensatz zu der Immunantwort der Maus) leicht zu hemmen. Demgegenüber ist Cy-

clophosphamid in beiden Spezies immunsuppressiv wirksam: sein cytotoxischer Effekt ist von einem spezifischen Stadium der Lymphozyten innerhalb ihres Zellzyklus weitgehend unabhängig.
Die Kenntnis der Proliferationsrate immunkompetenter Zellen stellt somit eine wesentliche Voraussetzung für den differenzierten Einsatz unterschiedlicher immunsuppressiver Substanzen dar.

D Tabellarischer Anhang

Tabelle I (a und b) S. 36-39

Autoradiographische Lebensdauerbestimmung von Granulozyten,großen,sowie mittleren und kleinen mononukleären Zellen. (s. Abb. 4)

Tabelle II (a und b) S. 40-41

Anzahl der Granula pro Zellkern (in %) - Ausdruck für die Intensität der radioaktiven Markierung. (s. Abb.5)

Tabelle III (a und b) S. 42

a) Einzeltiter - alle Doppelwerte - (s. Abb. 7)
b) Mittelung der reziproken Werte und Rückrechnung in Titerstufen. (s. Abb. 6)

Tabelle IV S. 43

Prozentuale Änderung gegenüber den Ausgangswerten von Granulozyten,großen,sowie mittleren und kleinen mononukleären Zellen. Dargestellt sind die Mittelwerte von 4 Kontrolltieren, 5 mit 6-Merkaptopurin behandelten und 5 mit Cyclophosphamid behandelten Tieren. (s. Abb.11)

Tabelle V S. 44

Wie Tabelle IV,allerdings Darstellung der Einzelwerte von 4 Kontrolltieren. (S. Abb. 8)

Tabelle VI S. 45

Wie Tabelle IV,allerdings Darstellung der Einzelwerte von 5 mit 6-Merkaptopurin behandelten Tieren. (s. Abb.9)

Tabelle VII S. 46

Wie Tabelle IV,allerdings Darstellung der Einzelwerte von 5 mit Cyclophosphamid behandelten Tieren. (s. Abb.10)

Tabelle I :

Autoradiographische Lebensdauerbestimmung von Granulozyten, großen, sowie mittleren und kleinen mononukleären Zellen. -
(G: Granulozyten ; GM: große mononukleäre Zellen ; MK: mittlere u. kleine mononukleäre Zellen; %: prozentualer Anteil der Zellpopulationen im Differentialblutbild ; m: Absolutzahl der markierten Zellen ; %m: % der markierten Zellen ; - Von einem Tag sind immer Doppelbestimmungen angefertigt worden. -

a) Tabelle I, erstes Tier

1.Tag	%	m	%m	1.Tag	%	m	%m	2. Tag	%	m	%m	2. Tag	%	m	%m
G	11	6	55		14	7	5o		12	1o	84		12	9	75
GM	19	5	26		19	6	31		22	1o	46		22	8	36
MK	7o	8	11		67	1o	15		66	19	29		66	21	32

3.Tag	%	m	%m	3.Tag	%	m	%m	4. Tag	%	m	%m	4. Tag	%	m	%m
G	13	12	92		12	1o	83		12	12	1oo		12	12	1oo
GM	24	13	54		24	13	54		24	15	63		24	15	63
MK	63	25	4o		64	23	36		64	29	45		64	32	5o

5.Tag	%	m	%m	5.Tag	%	m	%m	6. Tag	%	m	%m	6. Tag	%	m	%m
G	11	11	1oo		12	12	1oo		12	12	1oo		12	12	1oo
GM	22	15	68		22	16	73		23	16	7o		24	14	58
MK	67	35	52		66	38	58		65	34	52		64	3o	47

7.Tag	%	m	%m	7.Tag	%	m	%m	8. Tag	%	m	%m	8. Tag	%	m	%m
G	14	14	1oo		15	15	1oo		12	12	1oo		11	11	1oo
GM	25	17	68		25	17	68		26	15	58		27	17	63
MK	61	3o	49		6o	29	48		62	32	52		62	29	47

9.Tag	%	m	%m	9.Tag	%	m	%m	10.Tag	%	m	%m	10.Tag	%	m	%m
G	12	12	1oo		11	11	1oo		13	12	92		13	11	85
GM	24	17	71		23	17	74		26	2o	77		25	18	72
MK	64	31	49		66	32	49		61	28	46		62	3o	49

11.Tag	%	m	%m	11.Tag	%	m	%m	12.Tag	%	m	%m	12.Tag	%	m	%m
G	14	11	79		14	1o	71		13	1o	77		13	1o	77
GM	26	15	58		26	17	65		25	14	56		25	14	56
MK	6o	25	42		6o	28	47		62	25	4o		62	29	47

14.Tag	%	m	%m	14.Tag	%	m	%m
G	16	12	75		15	10	67
GM	24	12	50		25	15	60
MK	60	28	47		60	25	42

16.Tag	%	m	%m	16.Tag	%	m	%m
	11	6	54		8	4	50
	21	11	52		21	13	62
	68	25	37		71	23	32

18.Tag	%	m	%m	18.Tag	%	m	%m
G	17	11	65				
GM	18	9	50				
MK	65	21	32				

20.Tag	%	m	%m	20.Tag	%	m	%m
	13	6	46		12	7	58
	21	12	57		21	11	52
	66	20	30		67	21	31

22.Tag	%	m	%m	22.Tag	%	m	%m
G	14	9	64		14	8	57
GM	23	8	35		24	11	46
MK	63	17	27		62	17	27

24.Tag	%	m	%m	24.Tag	%	m	%m
	12	6	50		12	5	42
	22	9	41		22	7	32
	66	17	26		66	15	23

27.Tag	%	m	%m	27.Tag	%	m	%m
G	12	4	33		11	3	27
GM	23	8	35		22	6	27
MK	65	15	23		67	11	16

30.Tag	%	m	%m	30.Tag	%	m	%m
	12	4	33		12	3	25
	23	7	30		22	5	23
	65	12	19		66	12	18

36.Tag	%	m	%m	36.Tag	%	m	%m
G	12	2	17		13	3	23
GM	23	5	22		23	6	26
MK	65	10	15		64	10	16

40.Tag	%	m	%m	40.Tag	%	m	%m
	14	2	14		13	2	15
	23	6	26		20	5	25
	63	10	16		66	10	15

47.Tag	%	m	%m	47.Tag	%	m	%m
G	12	1	8		12	2	16
GM	24	3	13		24	3	13
MK	64	6	9		64	7	11

b) Tabelle I, zweites Tier

1.Tag	%	m	%m	1.Tag	%	m	%m	2.Tag	%	m	%m	2.Tag	%	m	%m
G	12	4	33		11	5	46		14	10	71		15	10	67
GM	20	6	30		21	7	33		20	9	45		19	11	58
MK	68	8	12		68	9	13		66	18	27		66	24	36

3.Tag	%	m	%m	3.Tag	%	m	%m	4.Tag	%	m	%m	4.Tag	%	m	%m
G	15	12	80		13	10	77		16	16	100		16	13	82
GM	20	11	55		20	11	55		17	9	53		18	10	56
MK	65	24	37		67	26	39		67	30	45		66	29	44

5.Tag	%	m	%m	5.Tag	%	m	%m	6.Tag	%	m	%m	6.Tag	%	m	%m
G	14	12	86		15	13	87		15	15	100		12	12	100
GM	17	12	71		18	13	72		19	14	74		21	14	67
MK	69	35	51		67	35	52		66	35	53		67	33	49

7.Tag	%	m	%m	7.Tag	%	m	%m	8.Tag	%	m	%m	8.Tag	%	m	%m
G	15	15	100		16	16	100		15	15	100		14	14	100
GM	25	16	64		20	14	70		20	13	65		23	14	61
MK	60	28	47		64	29	45		65	32	49		63	29	46

9.Tag	%	m	%m	9.Tag	%	m	%m	10.Tag	%	m	%m	10.Tag	%	m	%m
G	16	16	100		17	17	100		17	15	88		17	16	94
GM	21	14	67		21	15	71		21	14	67		20	12	60
MK	63	31	49		62	30	48		62	25	40		63	26	41

11.Tag	%	m	%m	11.Tag	%	m	%m	12Tag	%	m	%m	12.Tag	%	m	%m
G	14	10	71		13	11	85								
GM	23	13	57		22	12	55								
MK	63	25	40		65	26	40								

14.Tag	%	m	%m	14.Tag	%	m	%m	16.Tag	%	m	%m	16.Tag	%	m	%m
G	16	13	81		15	12	80		15	7	46		14	6	43
GM	20	10	50		17	8	47		22	10	46		21	9	43
MK	64	27	42		68	27	40		63	24	38		65	23	35

18.Tag	%	m	%m	18.Tag	%	m	%m	20.Tag	%	m	%m	20.Tag	%	m	%m
G	16	8	50		14	7	50		15	4	27		14	7	50
GM	20	9	45		20	10	50		20	9	45		20	10	50
MK	64	20	31		66	21	32		65	20	31		66	20	30

22.Tag	%	m	%m	22.Tag	%	m	%m
G	14	6	43		14	7	50
GM	20	8	40		22	9	41
MK	66	17	26		64	18	28

24.Tag	%	m	%m	24.Tag	%	m	%m
	16	6	37		15	6	40
	21	7	33		20	6	30
	63	15	24		65	13	20

27.Tag	%	m	%m	27.Tag	%	m	%m
G	13	5	38		14	5	36
GM	21	8	38		21	7	33
MK	66	15	23		65	14	21

30.Tag	%	m	%m	30.Tag	%	m	%m
	15	4	27		16	3	19
	21	5	24		21	7	33
	64	12	19		63	12	19

36.Tag	%	m	%m	36.Tag	%	m	%m
G	13	2	15		15	3	20
GM	21	5	24		21	4	19
MK	66	11	17		24	10	16

40.Tag	%	m	%m	40.Tag	%	m	%m
	15	3	20		14	4	29
	22	6	27		21	5	24
	63	9	14		65	11	17

47.Tag	%	m	%m	47.Tag	%	m	%m
G	14	2	14		13	1	8
Gm	21	2	9		21	2	9
MK	64	5	8		66	7	11

Tabelle II :

Anzahl der Granula pro Zellkern (in %) - Ausdruck für die Intensität der radioaktiven Markierung. - abs. : absolute Zellzahl innerhalb der angegebenen Zeit ; mark abs. : Absolutzahl der markierten Zellen ; die fünf letzten senkrechten Spalten geben die Prozentzahl der Zellen an, die obenstehende Anzahl von Granula enthalten. G : Granulozyten ; GM: große mononukleäre- ; MK: mittlere und kleine mononukleäre Zellen ;

a) Tabelle II, erstes Tier

		abs.	mark abs.	0-4	4-8	9-15	15-25	25 u.mehr
	1.bis 3.Tag	74	54	27	20	43	10	--
	3.bis 5.Tag	71	71	--	30	49	15	5
	6.bis 9.Tag	75	75	--	15	42	27	16
G	10.bis 12.Tag	80	64	20	29	23	25	4
	14.bis 18.Tag	67	43	36	44	19	2	--
	20.bis 27.Tag	100	48	52	45	3	--	--
	Rest	100	19	81	19	--	--	--
	1.bis 3.Tag	130	55	57	37	5	--	--
	3.bis 5.Tag	139	91	35	24	16	10	13
	6.bis 9.Tag	150	100	33	29	22	12	4
GM	10.bis 12.Tag	153	98	36	39	19	5	1
	14.bis 18.Tag	109	60	45	45	7	3	--
	20.bis 27.Tag	178	72	59	38	3	--	--
	Rest	182	40	78	21	1	--	--
	1.bis 3.Tag	396	106	73	24	2	--	1
	3.bis 5.Tag	390	198	49	37	9	3	2
	6.bis 9.Tag	375	183	51	31	11	7	1
MK	10.bis 12. Tag	367	165	55	35	8	2	--
	14.bis 18. Tag	324	122	62	23	5	--	--
	20.bis 27. Tag	522	133	75	24	2	--	--
	Rest	518	77	85	14	1	--	--

b) Tabelle II, zweites Tier

		abs.	mark abs.	0-4	4-8	9-15	15-25	25 u.mehr
	1.bis 3.Tag	80	51	36	40	22	3	--
	3.bis 5.Tag	88	81	8	34	34	17	8
	6.bis 9.Tag	93	93	--	29	39	18	14
G	10.bis 12.Tag	61	52	15	41	38	7	--
	14.bis 18.Tag	90	53	41	45	14	--	--
	20.bis 27.Tag	115	46	60	38	2	--	--
	Rest	115	22	81	18	1	--	--
	1.bis 3.Tag	120	55	55	36	11	--	1
	3.bis 5.Tag	110	72	35	34	15	7	9
	6.bis 9.Tag	130	86	34	28	22	13	4
GM	10.bis 12.Tag	86	51	40	43	13	2	2
	14.bis 18.Tag	120	56	53	38	7	--	2
	20.bis 27.Tag	165	64	61	36	3	--	--
	Rest	169	36	79	20	1	--	--
	1.bis 3.Tag	400	109	73	23	4	1	--
	3.bis 5.Tag	402	197	51	32	10	4	4
	6.bis 9.Tag	377	179	53	30	9	5	3
MK	10.bis 12.Tag	253	102	60	31	7	2	1
	14.bis 18.Tag	390	142	64	28	7	1	--
	20.bis 27.Tag	520	132	75	23	2	--	--
	Rest	515	76	85	14	1	--	--

Tabelle III :

a) Einzeltiter - alle Doppelwerte - (s. Abb. 7 !)

K (1-4) = Kontrolltiere; 6MP (5-9) = 6-Merkaptopuringruppe;

CY (10-14) = Cyclophosphamidgruppe

		Tag 0	Tag 4	Tag 7	Tag 10	Tag 15	Tag 18	Tag 25
K	1	3 2	4 4	8 6	7 6	7 7	7 8	7 7
	2	3 3	7 6	7 7	7 8	7 8	7 8	8 7
	3	3 3	6 5	7 6	6 7	6 7	6 6	8 7
	4	2 2	5 6	6 5	6 6	7 6	6 6	6 7
6MP	5	2 3	4 3	6 5	4 5	5 4	5 5	7 6
	6	2 2	3 3	5 5	5 5	5 5	6 6	7 7
	7	2 2	3 2	4 3	2 3	4 4	5 4	6 5
	8	2 2	3 3	4 4	3 4	4 5	5 5	7 6
	9	2 2	2 2	3 2	2 2	/	/	/
CY	10	2 2	3 3	5 5	5 5	5 5	5 5	6 6
	11	2 2	2 3	5 5	3 4	5 5	6 5	7 6
	12	2 3	3 3	6 5	5 5	6 6	6 6	6 6
	13	2 2	3 3	6 6	5 5	/	/	/
	14	3 2	3 3	6 5	5 5	5 5	6 5	7 7

b) Mittelung der reziproken Werte und Rückrechnung in Titerstufen

	Tag 0	Tag 4	Tag 7	Tag 10	Tag 15	Tag 18	Tag 25
K	2,7	5,8	6,8	6,8	7	7	7,3
6MP	2,1	2,9	4,5	4	4,6	5,2	6,5
CY	2,3	2,9	5,5	4,7	5,3	5,6	6,5

Tabelle IV :

Änderung gegenüber den Ausgangswerten von Granulozyten, großen, sowie mittleren und kleinen mononukleären Zellen. Dargestellt sind die Mittelwerte von vier Kontrolltieren (K), und zweimal von fünf behandelten Tieren: 6-Mp (nach 6-Merkaptopurinbehandlung ; Cy (nach Cyclophosphamidbehandlung) - G : Granulozyten ; GM : große mononukleäre Zellen ; MK : mittlere und kleine mononukleäre Zellen ; (Ausgangswert = 100%)

		Tag 0	Tag 2	Tag 4	Tag 7	Tag 10	Tag 15	Tag 18	Tag 25
	G	100	108	104	163	176	119	111	114
K	GM	100	93	98	136	109	106	86	99
	MK	100	94	98	115	110	113	97	104
	G	100	180	182	132	144	173	236	158
6-Mp	GM	100	86	74	58	54	77	109	109
	MK	100	73	64	46	49	83	124	92
	G	100	144	147	150	194	273	620	169
Cy	GM	100	102	109	111	95	91	198	98
	MK	100	79	80	64	80	81	132	83

Tabelle V :

Änderung gegenüber den Ausgangswerten von Granulozyten, großen, sowie mittleren und kleinen mononukleären Zellen. Dargestellt sind die Einzelwerte von 4 Kontrolltieren (1-4). G: Granulozyten; GM: große mononukleäre Zellen; MK: mittlere und kleine mononukleäre Zellen; (Ausgangswert = 100%)

		Tag 0	Tag 2	Tag 4	Tag 7	Tag 10	Tag 15	Tag 18	Tag 25
	G	100	127	41	93	69	118	114	68
1	GM	100	107	67	125	76	103	66	74
	MK	100	97	70	120	95	116	84	76
	G	100	89	199	148	223	196	117	216
2	GM	100	84	166	161	136	164	92	158
	MK	100	90	155	131	146	141	109	152
	G	100	120	98	189	192	112	138	112
3	GM	100	109	108	152	119	124	132	93
	MK	100	105	95	114	114	108	120	103
	G	100	91	118	212	236	87	82	105
4	GM	100	76	75	119	108	65	63	88
	MK	100	83	85	101	96	97	78	96

Tabelle VI :

Änderung gegenüber den Ausgangswerten von Granulozyten, großen, sowie mittleren und kleinen mononukleären Zellen. Dargestellt sind die Einzelwerte von 5 mit 6-Merkaptopurin behandelten Tieren. G: Granulozyten; GM: große mononukleäre Zellen; MK: mittlere und kleine mononukleäre Zellen; (Ausgangswert=100%)

		Tag 0	Tag 2	Tag 4	Tag 7	Tag 10	Tag 15	Tag 18	Tag 25
	G	100	136	107	103	196	164	225	69
5	GM	100	91	76	62	60	98	114	61
	MK	100	71	62	64	60	90	117	84
	G	100	177	130	144	220	157	130	110
6	GM	100	96	78	95	69	79	148	114
	MK	100	76	68	71	60	99	156	116
	G	100	210	104	137	339	215	176	206
7	GM	100	117	108	69	88	88	108	206
	MK	100	86	70	58	84	109	131	149
	G	100	250	420	173	137	310	536	370
8	GM	100	102	103	42	63	108	156	183
	MK	100	83	57	37	61	110	202	111
	G	100	156	124	117	39			
9	GM	100	61	44	42	26			
	MK	100	63	60	24	19			

Tabelle VII :

Änderung gegenüber den Ausgangswerten von Granulozyten, großen, sowie mittleren und kleinen mononukleären Zellen. Dargestellt sind die Einzelwerte von 5 mit Cyclophosphamid behandelten Tieren (10-14). G: Granulozyten; GM: große mononukleäre Zellen; MK: mittlere und kleine mononukleäre Zellen; (Ausgangswert = 100%)

		Tag 0	Tag 2	Tag 4	Tag 7	Tag 10	Tag 15	Tag 18	Tag 25
	G	100	157	165	189	94	302	543	212
10	GM	100	132	104	66	37	65	177	79
	MK	100	75	78	43	31	67	143	94
	G	100	134	146	114	135	388	934	149
11	GM	100	96	119	90	76	98	275	91
	MK	100	91	89	54	55	74	165	55
	G	100	109	118	145	184	272	808	218
12	GM	100	124	117	148	104	150	277	169
	MK	100	91	79	83	67	126	172	104
	G	100	276	185	272	529			
13	GM	100	134	146	161	235			
	MK	100	103	94	127	216			
	G	100	101	143	92	132	114	157	77
14	GM	100	59	86	108	71	58	97	62
	MK	100	57	69	41	66	58	65	69

E. Literaturverzeichnis

1 Aisenberg,A.C.;B.Wilkes: Immunological Tolerance induced by Cyclophosphamide assayed by Plaque Spleen Cell Method.

Nature 213 , 498-499 (1967)

2 Berenbaum,Mc.: Effect of cytotoxic agents on antibody production.

Nature 185 , 167-168 (1960)

3 Berenbaum,M.C.;J.N. Brown: Dose response relationships for agents inhibiting the immune response.

Immunol. 7 , 65-71 (1964)

4 Chanmougan,D.;R.S. Schwartz: Enhancement of antibody Synthesis by 6-mercaptopurine.

J.exp.Med.124 , 363-378 (1966)

5 Cottier,H.;Schindler,R.;et al.: Kinetic Aspects of lymphocyte recirculation.

Int.Arch.Allergy 41 , 4-12 (1971)

6 Finger,H.: Die Depression der primären Immunitätsreaktion durch 6-Merkaptopurin und Cyclophosphamid bei verschiedenen Tierarten. II. Die unterschiedliche Beeinflussung der Antikörperbildung von Kaninchen, Meerschweinchen, Ratten und Mäusen durch 6-Merkaptopurin und Cyclophosphamid.

Zeitschr.f.d.ges.exp.Med. 143 , 105-120 (1967)

7 Floersheim,G.L.: Pharmakologische Beeinflussbarkeit zellulärer Immunität.

Z.Naturwiss.-Med. Grundlagenforschung 2 , 307-360 (1965)

8 Good,R.A.: Experimental and clinical experiences with chemical suppression of immunity. A personal review.

In: Immunopathology 5th International Symp., Punta Ala 1967 S. 366-384

9 Kaboth, W.; F. Trepel; et al.: Morphologische und funktionelle Veränderungen im Blutzellsystem des Meerschweinchens nach Behandlung mit cytostatischen Substanzen und Prednisolon.

Z. ges. exp. Med. 148 , 306-336 (1968)

10 Lemmel,E.-M.;E.R.Hurd;M.Ziff: Differential Effects of 6-mercaptopurine and cyclophosphamide on autoimmune phenomena in NZB mice.

Clin.exp.Immunol. 8 , 355-362 (1971)

11 Lemmel,E.-M.;K.E.Fichtelius: Life Span of Lymphocytes within Intestinal Epithelium,Peyer's Patch Epithelium,

Int.Arch.Allergy 41 , 716-728 (1971)

12 Lemmel,E.-M.: Studien über den Wirkungstyp immunsuppressiver Substanzen.

Habilschr. Mainz 1973

13 Mornington,B.: Biochemische Wirkung von Antimetaboliten am Beispiel von 6-Merkaptopurin und Azathioprin.

In: Chemo-und Immuntherapie der Leukosen und malignen Lymphome. Internationale Arbeitstagung Wien 1969 Hrsg. v. Stacher,A. S. 11-14

14 Santos,G.W.: Immunsuppressive drugs.

Fed.Proc. 26 , 907-913 (1967)

15 Schick,P.;F.Trepel;H.Begemann: Morphologische und funktionelle Veränderung im Blutzellsystem des Meerschweinchens nach Behandlung mit cytostatischen Substanzen,Prednisolon und Phenylbutazon. I.Veränderungen verschiedener Leukozyten- und Lymphozytengruppen im Blut.

Z.ges.exp.Med. 148 , 275-305 (1968)

16 Sercarz,E.;A.H.Coons: The exhaustion of spezific antibody producing capacity during a secondary response.

In: Mechanisms of Immunological Tolerance. Ed. M.Hašek, A.Lengerova, M.Vojtiškova; Publ.House Czechoslov.Akad. Sci., Prague 1962 S. 73-83

17 Schwartz,R.;J.Stack;W.Dameshek: Effect of 6-mercaptopurine on antibody production.

Proc.Soc.exp.Biol. 99 , 164 (1958)

18 Schwartz,R.;A.Eisner;W.Dameshek: The effect of 6-mercaptopurine on primary and secondary immune responses.

J.clin.Invest. 38 , 1394-1403 (1959)

19 Schwartz,R.: Proceedings of the Symposium on Immunosuppressive Drugs. Brook lodge 1966

Fed.Proc. 26 , 877-960 (1967)

20 Šterzl,j.: Study of antibody formation by the use of metabolic inhibitors. I.The effect of 6-mercaptopurine on spezific immune reactions.

Folia Microbiol. (Praha) 5 , 364 (1960)

21 Šterzl,J.: Studies on differentiation of immunocompetent cells using immunological inhibition.

Antibiot.et Chemother. 15 , 135-154 (1969)

22 Takatsy,G.: The use of spiral loops in serological and virological micro-methods.

Acta Microbiol.Hung. 3 ,191-202 (1955)

23 Trepel,F.;H.Begemann: On the origin of the Skin Window Macrophages.

Acta haematol. (Basel) 36 , 386-398 (1966)

24 Wilmans,W.: Immunbiologische Grundlagen der medikamentösen Immunsuppression.

In: Medikamentöse Immunsuppression. 1. Arbeitstagung Bad Tölz 1970 Hrsg.v. Ricken,D.;K.Schumacher S. 3-18

Für die Überlassung des Themas und für die freundliche Beratung und Hilfe danke ich Herrn Professor Dr. Ernst - Martin Lemmel herzlich.
Ebenso gilt mein Dank den Mitarbeitern des Mikrobiologischen Institutes der Universität Mainz für die wertvolle Unterstützung bei der Durchführung der praktischen Arbeiten.
Herrn Karl-Heinz Wortmann danke ich für die mathematische Berechnung der Kurvenzüge in ABB. 4.

LEBENSLAUF

Am 31.3.1951 wurde ich als Sohn des kaufm. Angestellten Gustav Thiry und seiner Ehefrau Charlotte,geb. Scharf in Schwarzenbach Kreis St.Wendel/ Saar geboren. Von 1957-1961 besuchte ich die dortige Volksschule und anschließend das Staatl.Neuspr. Gymnasium in Birkenfeld/ Nahe,zu dessen neugegründetem mathematisch naturwissenschaftlichem Zweig ich später überwechselte. Im Juni 1969 machte ich das Abitur und bewarb mich bei der Bundeswehr für die Laufbahn eines Sanitätsoffiziers. Nach zwei verkürzten Lehrgängen in München bestand ich im Frühjahr 1970 die Offiziersprüfung und wurde zum Studium beurlaubt.Ich immatrikulierte mich im Sommersemester 1970 an der Johannes Gutenberg - Universität Mainz für das Fach Humanmedizin. Nach zwei Semestern legte ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung und nach weiteren drei Semestern die ärztliche Vorprüfung ab. Letztere war Voraussetzung für meine Beförderung zum Leutnant. Am 4.11.1974 heiratete ich die Studentin Friederike Christine Sonntag.

Mainz,den 2.12.1974